

## التغيرات المرضية النسيجية في التوتة وجراب فابريشيوس الناتجة عن استخدام اللقاحات الحية ضعيفة الضراوة ضد فيروس مرض نيوكاسل عند دجاج اللحم

د. واصف سلمان الوسوف\*

(الإيداع: 20 تموز 2022 ، القبول: 1 أيلول 2022)

### الملخص:

يهدف هذا البحث إلى دراسة التغيرات التشريحية المرضية في التوتة وجراب فابريشيوس عند دجاج اللحم بعد التحصين ضد فيروس مرض نيوكاسل بعثرة ضعيفة الضراوة. حُصِنَت طيور دجاج اللحم ضد فيروس مرض نيوكاسل في اليوم الثامن بلباقح حي ضعيف الضراوة (العثرة المُنسلة) عن طريق ماء الشرب. جمعت العينات النسيجية من التوتة وجراب فابريشيوس لدراسة التغيرات المرضية بعد 2 و 24 و 48 و 96 و 144 ساعة من اعطاء اللقاح. حضرت العينات بطريقة الإدماج بالبرافين وصبغت الشرائح النسيجية بالهيماتوكسولين والأيوزين وصبغة أزرق الميثيلين.

### النتائج:

لوحظ احتقان واضح ونقط نزفية في التوتة على نحو مبكر وخلال مدة التجربة بينما لم تلاحظ أية تغيرات مرضية عيانية في جراب فابريشيوس.

وجدت تغيرات مرضية مجهرية واضحة في التوتة فقد لوحظ احتقان الأوعية الدموية والنزف ونخر محدود في الخلايا اللمفاوية وارتشاح المستغيرات وقد بدت بعض الخلايا شبيهة العضلية متضخمة وازدادت الخلايا البدينة بين الجريبات اللمفاوية وحول الأوعية الدموية وتراجعت هذه التغيرات مع نهاية التجربة.

ارتشحت المستغيرات حول الجريبات اللمفاوية في جراب فابريشيوس وبشكل حلقي ولكن بشكل محدود وغير منتشر كما ازدادت الخلايا البدينة حول الجريبات اللمفاوية بشكل محدود أيضاً.

وفي النتيجة حدثت تغيرات مرضية واضحة في التوتة بينما كانت التغيرات المرضية في جراب فابريشيوس على شكل ارتشاح للمستغيرات والخلايا البدينة في محيط بعض الجريبات اللمفاوية ولم تلاحظ تغيرات وعائية.

الكلمات المفتاحية: التغيرات التشريحية المرضية، مرض نيوكاسل، لقاح، التوتة، جراب فابريشيوس.

\* دكتوراه في التشريح المرضي - قسم التشريح المرضي - كلية الطب البيطري - جامعة حماة

## **Histopathological changes in Thymus and Bursa of Fabricious caused by live attenuated vaccines against Newcastle disease virus in Broiler chickens**

**Dr. Wasef S. Alwassouf\***

**(Received: 20 July 2022 , Accepted: 1 September 2022)**

### **Abstract:**

This research aims to study the pathological changes in the thymus and Bursa of Fabricius in broiler chickens after vaccination against Newcastle disease virus with a lactogenic NDV vaccine strain.

The chickens were vaccinated against Newcastle disease virus with live attenuated vaccine (cloned strain) through drinking water. Histologic samples were collected for studying histopathologic changes in thymus and bursa of fabricius 2, 24, 48, 96 and 144 hours post vaccination. Paraffin sections were made and stained with Hematoxline–Eosin and methylene blue stain.

Macroscopic exam revealed hemorrhagic spots and congestion after 2 hours of vaccine administration in thymus. Whereas no macroscopic pathological changes were observed in bursa of fabricius.

Microscopic exam revealed congestion of blood vessels, hemorrhage and light necrosis of lymphoid cells in thymus, hypertrophy of Myoid cells and infiltration of Heterophils and Mast cells.

Infiltration of Heterophils was observed locally around lymphoid follicles in bursa of fabricius, also Mast cells increased around lymphoid follicles.

Conclusion: obvious pathological changes occurred in thymus after vaccination by cloned strain of NDV. local infiltration of Heterophils and Mast cells were observed in bursa of fabricius during this study.

**Key words:** Histopathological Changes, Newcastle Disease, Vaccine, thymus, bursa of fabricius.

---

\*Doctorate degree in pathology, Department of pathology, college of veterinary medicine, Hama university.

## 1-المقدمة:

يعتبر مرض نيوكاسل تهديداً لصناعة الدواجن في معظم بلدان العالم الذي يسببه فيروس مرض نيوكاسل ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة بسبب نسبة النفوق العالية التي يحدثها في قطعان الدواجن المصابة، لذلك ما تزال تجرى البحوث العلمية حول تأثيرات الفيروس وطرق الحماية منه بكثافة في مختلف بلدان العالم وخاصة على مستوى تطوير اللقاحات. وتنتج معظم اللقاحات للحماية من فيروس مرض نيوكاسل الضاري من العترة الضعيفة الضراوة (Bello et al. 2018).

يمكن أن يكون الجهاز اللمفاوي هدفاً للعوامل المرضية ويسبب تغيرات مرضية شديدة فيها، ومنها فيروس نيوكاسل عالي الضراوة الذي يحدث نزف ونخر في الأنسجة اللمفاوية المعوية واستنزاف لمفاوي في التوتة وجراب فابريشيوس والطحال (Kabiraj et al. 2020). وهذا يمكن أن يقوض الجهاز المناعي ويكبح دفاعات الجسم ضد فيروس مرض نيوكاسل والعوامل الممرضة الأخرى.

وجد أن الكثير من أنواع اللقاحات يمكن أن تسبب ردود فعل نسيجية والتهابية غير مرغوب فيها سواء في الجهاز التنفسي أو في الجهاز الهضمي قد تتطور إلى حالة مرضية مع سوء استخدام اللقاح (Al-garib et al. 2003, Nakamura et al. 2013)؛ لذلك يسعى مطورو اللقاحات ضد فيروس مرض نيوكاسل لتقليل ردود الفعل اللقاحية السلبية على أنسجة الجسم مع زيادة فعاليتها في الوقت نفسه؛ وقد وجدنا أنه بالرغم من غزارة الأبحاث في هذا المجال لم نجد اهتماماً كافياً بتأثير اللقاحات الحية على الأنسجة اللمفاوية وتغيرات الخلايا البدنية في هذه الأعضاء بالمقارنة مع الدراسات المنشورة حول تأثير الفيروس نفسه. وفي هذه الدراسة سنحاول تسليط الضوء على التغيرات المرضية التي يمكن أن تحدثها اللقاحات الحية ضعيفة الضراوة على أنسجة التوتة وجراب فابريشيوس عند دجاج اللحم، وأختير لقاح العترة المُنسلة cloned strain كنموذج لهذه اللقاحات نظراً لاستخدامها الواسع في سورية.

## 2-هدف البحث:

تقييم التغيرات التشريحية المرضية وردود الفعل الالتهابية وتغيرات الخلايا البدنية في التوتة وجراب فابريشيوس الناتجة عن استخدام اللقاحات ضعيفة الضراوة عند دجاج اللحم.

## 3-المواد وطرائق العمل:

أ- تم تربية 35 صوص دجاج لحم من عمر يوم واحد حتى نهاية التجربة في ظروف التربية الحقلية. وقسمت الطيور إلى مجموعتين منفصلتين الأولى تضم 25 طيراً جرى تحصينها باللقاح، والمجموعة الثانية (الشاهد) تضم 10 طيور لم تعط اللقاح.

ب- استخدم اللقاح (CL/79) cloned strain تصنيغ شركة هيبرا Hepra، وهو مكون من فيروس حي مضعف لعترة لاسوتا المُنسلة live attenuated LaSota cloned strain المشتق من عترة لاسوتا لفيروس مرض نيوكاسل (Hepra, 2019).

ت- تم تحصين الطيور ضد فيروس مرض نيوكاسل باليوم الثامن من عمر الطيور عن طريق ماء الشرب.

ث- طرق جمع العينات المدروسة:

1- تم جمع العينات بعد ساعتين و 24 و 48 و 96 و 144 من التحصين.

2- أخذت العينات للدراسة النسيجية بعد الذبح من خمسة طيور ملقحة واثنين من الطيور غير الملقحة في كل مرة، وسجلت التغيرات المرضية العيانية.

3- أخذت العينات للدراسة النسيجية من التوتة وجراب فابريشيوس.

ج- طريقة تثبيت العينات وطرائق الصباغة النسيجية:

- 1- تم تثبيت العينات بمحلول الفورمالين المتعادل 10%.
  - 2- حضرت العينات بطريقة الإدماج بالبرافين، عملت شرائح النسيجية بسماكة 4-6 ميكرون.
  - 3- تم صباغة الشرائح النسيجية بالصبغات التالية:
    - أ- الهيماتوكسلين والأيوزين لدراسة التغيرات المرضية النسيجية العامة.
    - ب- صبغة جيمسا للكشف عن الخلايا البدينة.
    - ج- فحصت الشرائح النسيجية بالمجهر الضوئي وتوثق التغيرات المرضية باستخدام كاميرا مجهرية.
- الدراسة المرجعية:

تعتبر التوتة Thymus وجراب فابريشيوس Bursa of Fabricious الأعضاء اللمفاوية الرئيسية في الجهاز اللمفاوي للطيور (Fath El-Bab, 2004)؛ وكل منهما يملك تركيباً مميزاً. يحيط بالتوتة محفظة من النسيج الضام ترسل حويصلات إلى داخل التوتة فتقسمها إلى فصيصات ولكل فصيص منطقة قشرية تتركز فيها الخلايا اللمفاوية ومنطقة لبية فاتحة نسبياً تحوي أعداد أقل من اللمفاويات وجسيمات هاسل (أو تركيب شبكي ظهاري reticular structures) وخلايا شبكية reticular cells وخلايا شبه عضلية. ويتكون جراب فابريشيوس من ظهارة عمودية مطبقة موهمة Pseudostratified columnar epithelium. في معظمها تحيط بالجربيات اللمفاوية التي تشكل جراب فابريشيوس وكل جريب محاط بطبقة رقيقة من النسيج الضام وبدوره يتكون من منطقة قشرية تحوي اللمفاويات الأكثر نضوجاً ومن منطقة لبية فيها خلايا لمفاوية أقل نضوجاً تكون أكبر بالحجم نسبياً وتتفصل المنطقة اللبية عن القشرية بطبقة من الخلايا الظهارية غير المتميزة (Bacha and Bacha, 2012) Undifferentiated epithelial cell.

ينتمي فيروس مرض نيوكاسل إلى مجموعة الفيروسات نظيرة المخاطية الطيرية النمط المصلي الأول avian paramyxovirus serotype-1 (APMV-1) (Meulemans et al. 2015, Miller and Koch et al. 2013) و تحدث الفيروسات عالية الضراوة امراضية شديدة للطيور فتسبب أعراضاً مرضية شديدة على شكل أعراض هضمية أو تنفسية أو عصبية ترتبط مع النمط المصلي للفيروس. بينما يمكن للعترات ضعيفة الضراوة لفيروس مرض نيوكاسل أن تسبب مرضاً للطيور بدون أعراض مرضية ظاهرة (Darrell et al. 2013).

ويلاحظ في الدراسات العلمية التأثير الواضح للفيروسات عالية الضراوة لمرض نيوكاسل على النسيج اللمفاوي؛ فقد وجد (Ezema et al. 2009) عند الخمج التجريبي بعزولة محلية لفيروس نيوكاسل الضاري local Nigerian strain of velogenic Newcastle disease virus (VNDV) عند الطيور المحصنة وغير المحصنة ضمور شديد في جراب فابريشيوس والتوتة والطحال ترافق مع نخر واستنزاف في النسيج اللمفاوي، وكانت هذه التغيرات أشد في الطيور غير المحصنة. وأكد (Susta et al. 2015) أن الأنماط الجينية لفيروس مرض نيوكاسل XIV و XVII المعزولة في غرب إفريقيا الضارية أحدثت نخرًا شديدًا في النسيج اللمفاوي: التوتة وجراب فابريشيوس والطحال واللوزات الأعورية والتجمعات اللمفاوية المعوية. وأظهرت الصباغة المناعية النسيجية انتشار الفيروس بشدة في هذه الأعضاء. ووجد (Nakamura et al. 2013) خلال الخمج التجريبي لأحد العزولات اليابانية لفيروس نيوكاسل عالي الضراوة ND virus strain (APMV1/chicken/Japan) أن الفيروس أحدث تغيرات شديدة في النسيج اللمفاوي عند الدجاج الخالي من مسببات المرضية (SPF) تمثلت بحدوث نزف ونخر في الأنسجة اللمفاوية المعوية واستنزاف لمفاوي في التوتة وجراب فابريشيوس والطحال واللوزات الأعورية ونخر في نقي العظم إضافة إلى ارتشاح فبريني في الطحال وتكاثر البلاعم، كما سبب التهاب الرغامى والملتحمة إضافة لتغيرات مرضية أخرى في الكبد والرئتين. ووجد (Kabiraj et al. 2020) لدى دراسة التغيرات التشريحية

المرضية المتعاقبة لمرض نيوكاسل بعد الخمج التجريبي بالعترة BD-C161/2010 strain of NDV عند الجاج البياض في بنغلادش أنها أحدثت أعراض مرضية مشابهة للعترة الحشوية عالية الضراوة لمرض نيوكاسل. وقد وجد نزف ونخر في الأنسجة اللمفاوية المعوية واستنزاف لمفاوي في التوتة وجراب فابريشيوس....إضافة للتغيرات المرضية الأخرى. بينما (Harrison et al., 2011) حدوث الموت المبرج في الأنسجة اللمفاوية عند الخمج التجريبي بأنواع مختلفة من عترات فيروس مرض نيوكاسل وكانت شدته متناسبة مع شدة الأعراض المرضية. رغم الدراسات الكثيرة جداً التي تهتم بدراسة تأثير فيروس نيوكاسل على الطيور؛ إلا أن الدراسات التي تهتم بدراسة تأثيرات اللقاحات على الأنسجة تبدو قليلة، ومنها دراسة (Igwe et al., 2020) حيث تم إعطاء لقاح لاسوتا لطيور اللحم التي قسمت إلى ثلاث مجموعات؛ أعطيت المجموعة الأولى جرعة مفردة من اللقاح بينما أعطيت الثانية جرعة مضاعفة وأعطيت الثالثة ثلاثة أضعاف الجرعة. لم تسجل على الطيور أعراض مرضية ولم يحدث النفوق لأي من الطيور؛ ولوحظ فقط تراجع خفيف في حجم جراب فابريشيوس بعد عشرة أيام من التحريج؛ بينما لوحظ مجهريا فرط تنسج لمفاوي وتشكيل مراكز انتاشية في الطحال ولوزات الأعورين من اليوم 3-6 بعد التحصين وتراجع معتدل للخلايا اللمفاوية في اليوم العاشر بعد التحصين، وعلى العموم بقيت بنية الأعضاء اللمفاوية سليمة واستتجوا أن الجرعات الزائدة من لقاح لاسوتا لم تحدث تخرب مرضي. وقد وجد (Bili et al., 2013) ازدياد عدد الخلايا المصورية في جراب فابريشيوس والتوتة حيث بعد تحصين الطيور بطرق مختلفة بعمر 5 أيام وذبحت بعمر 26 يوم.

تعتبر الخلايا البدينة من الخلايا التي تدعم عمل الجهاز المناعي بشكل واضح من خلال العديد من الوسائط الكيميائية التي تؤثر على نفوذية الأوعية الدموية، وبعضها يعمل على جذب الخلايا الالتهابية إلى المنطقة المتأثرة بالعوامل الممرضة، وتوجد مصاحبة للأوعية الدموية في الأعضاء المختلفة (Bacha & Bacha, 2012). وأكد (Ashley et al. 2013). (Rehman et al. 2017) أن الخلايا البدينة تشكل ذراعاً رئيسياً لجهاز المناعة الفطرية innate immune system. ولها دور ثنائي أولاً في التنبه لغزو العوامل الممرضة وثانياً كخلايا منظمة خلال سير الالتهاب الحاد من البداية وحتى انصرافه. وحسب (Quan et al. 2009) فقد اشتركت الخلايا البدينة في الاستجابة لفيروس مرض نيوكاسل وافترض وجود دور للخلايا البدينة في التغيرات المرضية التي يسببها فيروس مرض نيوكاسل فقد ازدادت الخلايا البدينة بشكل واضح خلال الخمج التجريبي لفيروس نيوكاسل الضاري في المعدة الغدية والعفج والصائم واللوزات الأعورية بعد الخمج التجريبي بينما وجدت أعداد قليلة في أنسجة الشاهد، وافترض (Graham et al. 2013) وجود دور بارز للخلايا البدينة في الأخماج الفيروسية المترافقة مع أمراض واضح للثوي.

#### 4-النتائج:

لم تلاحظ أية أعراض مرضية خلال فترة التجربة على الطيور الحية المحصنة وغير المحصنة.

التغيرات التشريحية المرضية (بعد الذبح):

أولاً: عينات الشاهد (غير المحصنة):

1- التغيرات التشريحية المرضية العيانية:

لم تلاحظ أية تغيرات مرضية.

2- التغيرات التشريحية المرضية المجهرية:

لم تلاحظ تغيرات تشريحية مرضية وقد وجدت بعض الخلايا القليلة من المستعمرات والخلايا البدينة في جميع العينات في النسيج الضام المحيط بالنسيج اللمفاوي والأوعية الدموية وهي موجودة بشكل طبيعي في عينات الشاهد و بدت أكثر نسبياً في جراب فابريشيوس شكل رقم ( 1 ) وشكل رقم ( 2 ).

### ثانياً: عينات الطيور المحصنة:

- 1- التغيرات التشريحية المرضية العيانية:
  - أ- لم تلاحظ تغيرات مرضية واضحة في جراب فابريشيوس خلال فترة التجربة.
  - ب- التغيرات المرضية العيانية في التوتة:
    - بعد 2 ساعة من اللقاح: لوحظ احتقان واضح في جميع العينات في أغلب فصوص التوتة ونزف واضح في ثلاثة عينات من 5 شكل رقم ( 3 ).
    - بعد 24 ساعة من اللقاح: ظهور الاحتقان و النزف بدرجات مختلفة في جميع العينات .
    - بعد 48 ساعة من اللقاح: تراجع حدة الاحتقان و البؤر النزفية في التوتة.
    - بعد 96 ساعة من اللقاح: اختفاء النقط النزفية مع وجود احتقان خفيف.
    - بعد 144 ساعة من اللقاح: اختفاء الاحتقان من التوتة في جميع العينات.
- 2- التغيرات التشريحية المرضية المجهرية:
  - بعد 2 ساعة من اللقاح:
    - أ- التوتة: لوحظ وجود نزف (وجدت كريات الدم الحمراء بين الخلايا للمفاوية خارج الأوعية الدموية) واحتقان في لب الفصيصات للمفاوية لجميع العينات.
    - ب- جراب فابريشيوس: لا توجد تغيرات واضحة.
      - بعد 24 ساعة من اللقاح:
        - أ- التوتة:
          - 1- احتقان الأوعية الدموية ونزف واضح في لب الفصيصات للمفاوية.
          - 2- ارتشاح المستعيرات في بعض الفصيصات بشكل بؤري بأعداد قليلة في النسيج الضام المحيط وخاصة بالقرب من الأوعية الدموية شكل رقم ( 4 ).
        - ب- جراب فابريشيوس:

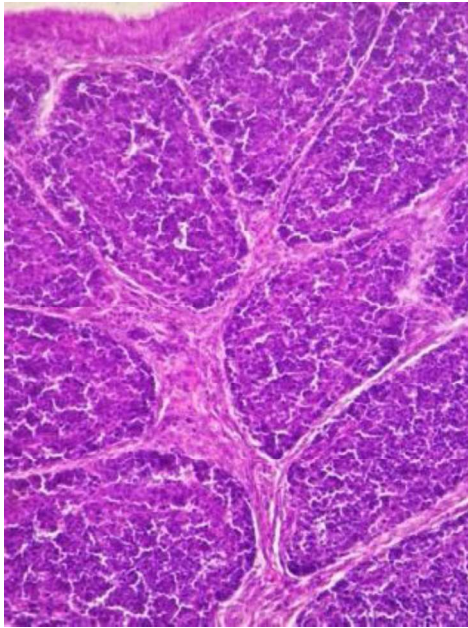
وجدت المستعيرات حول بعض الجريبات للمفاوية في مناطق محدودة (في عدة بؤر وليس بشكل منتشر) وفي الصفيحة المخصوصة تحت الظهارة المغلفة للجريبات للمفاوية بأعداد متفاوتة شكل رقم (7).

          - بعد 48 ساعة:
          - لوحظت نفس التغيرات السابقة إنما بشكل أوضح في التوتة وجراب فابريشيوس.
          - بعد 96 ساعة:
          - أ- التوتة:

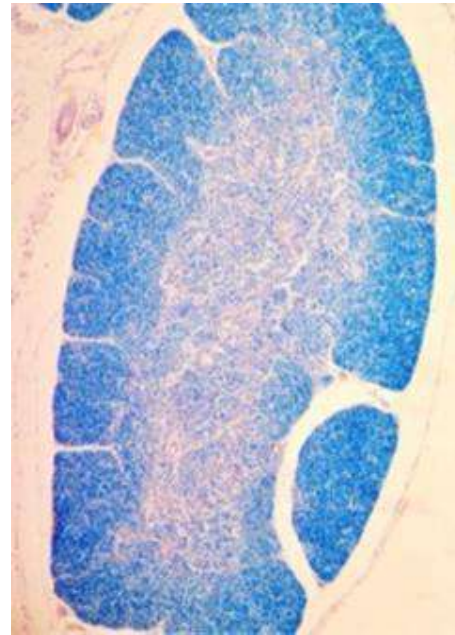
لوحظت المستعيرات حول الأوعية الدموية خاصة ووجدت بأعداد قليلة في المنطقة اللبية. ووجد صبغ الهيموسدرين في بعض العينات شكل رقم ( 5 ) . بدت بعض الخلايا شبه العضلية متضخمة وذات هيولى خشنة واستطالات هيولية قليلة شكل رقم ( 6 ). تنكس ونخر في الخلايا للمفاوية بشكل محدود لجميع العينات شكل رقم ( 6 ).
          - ب- جراب فابريشيوس:

ارتشحت المستعيرات حول بعض الجريبات للمفاوية على كامل محيطها بشكل لافت شكل رقم ( 8 ). وجد نخر واضح في للخلايا للمفاوية لبعض الجريبات بشكل محدود أيضاً في جميع العينات.

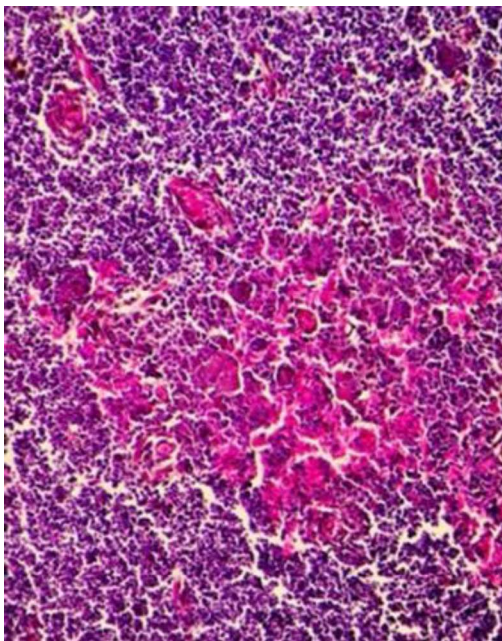
- بعد 144 ساعة:
  - أ- التوتة: تراجع النزف والاحتقان بشكل كبير بالمقارنة مع السابق
  - ب- جراب فابريشيوس: لوحظ وجود المستغيرات بشكل أقل حدة من السابق.
  - 3- التغيرات في الخلايا البدينة:
    - بعد 2 ساعة من اللقاح:
      - أ- التوتة: لوحظت الخلايا البدينة بشكل مشابه لعينات الشاهد.
      - ب- جراب فابريشيوس: لا توجد تغيرات واضحة
      - بعد 24 ساعة من القاح:
        - أ- التوتة: لوحظ زيادة متفاوتة في الخلايا البدينة في لب الفصيصة المفاوية وفي محيطها شكل رقم ( 9 ).
        - ب- جراب فابريشيوس:
          - ظهرت الخلايا البدينة بشكل بؤري محدود في الصفيحة المخصوصة وفي النسيج الضام لكنها متركزة حول بعض الجريبات المفاوية بكثافة شكل رقم ( 10 ).
  - بعد 48 ساعة: لوحظت أعداد قليلة إنما أعلى من الشاهد في التوتة ووجدت في جراب فابريشيوس بشكل مشابه للسابق
  - بعد 96 ساعة: مشابهة للسابق
  - بعد 144 ساعة: تراجمت أعداد الخلايا البدينة بشكل واضح في جميع العينات.



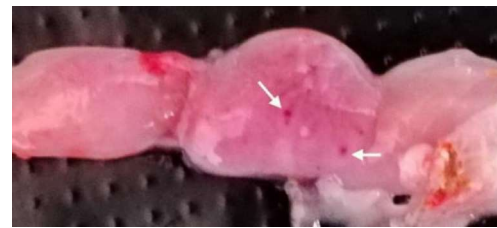
الشكل رقم (2): صورة طبيعية في جراب فابريشيوس تبيين الجريبات للمفاوية  $\times 10$  H&E.



الشكل رقم (1): صورة طبيعية لفصيصات التوتة: أزرق الميتلين  $\times 10$ .



الشكل رقم (4) : نزف واحتقان مراكز الفصيصات  $\times 10$  H&E

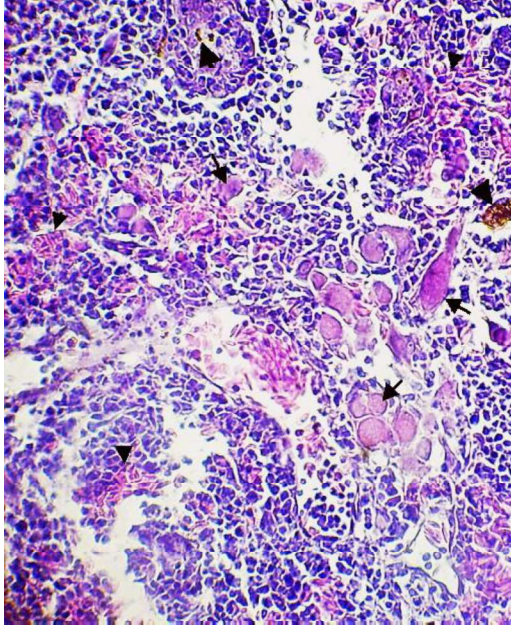


الشكل رقم (3) : نزف واحتقان التوتة

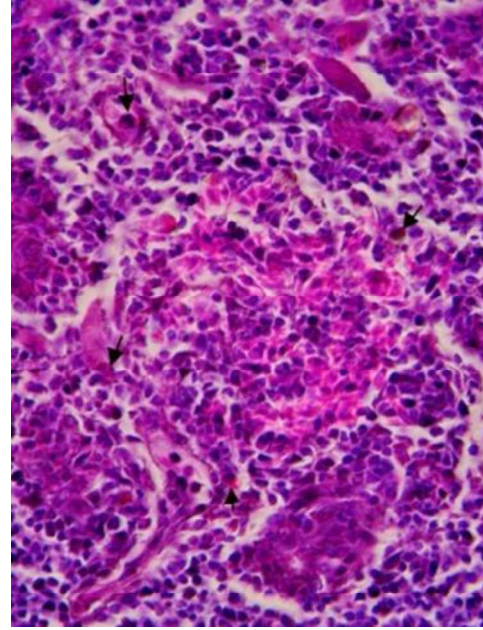


الشكل رقم (3) : نزف واحتقان التوتة

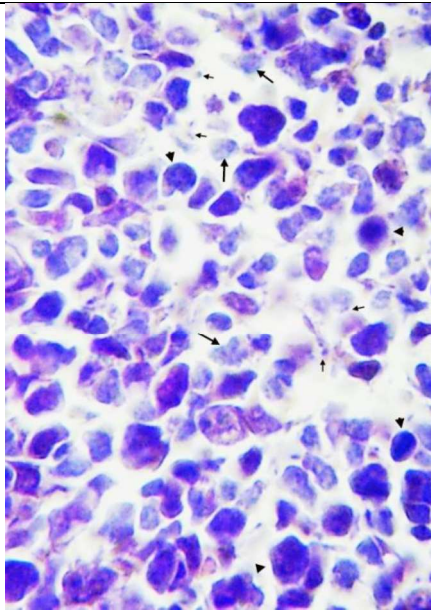




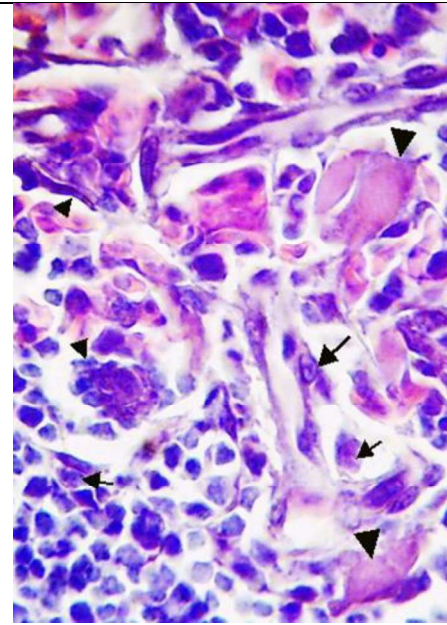
الشكل رقم (6) : يلاحظ توضع الهيموسدرين ضمن بعض الخلايا البالعة (رؤس الأسهم الكبيرة). ووجود كريات الدم الحمراء بين الخلايا للمفاوية (رؤس الأسهم الصغيرة). وتشير الأسهم السوداء إلى الخلايا شبه العضلية  $H&E \times 40$



الشكل رقم (5) : ارتشاح المستغيرات (الأسهم السوداء)  $H&E \times 40$

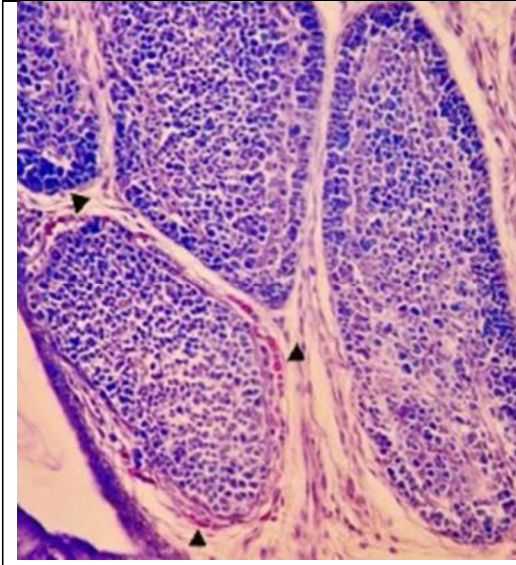


الشكل رقم (8): تشير رؤوس الأسهم إلى للمفاويات الطبيعية، بينما تشير الأسهم الكبيرة إلى خلايا في مراحل تنكس ونخر مختلفة، وتشير الأسهم الصغيرة إلى بقايا خلوية. جراب فابريشيوس  $H&E \times 100$

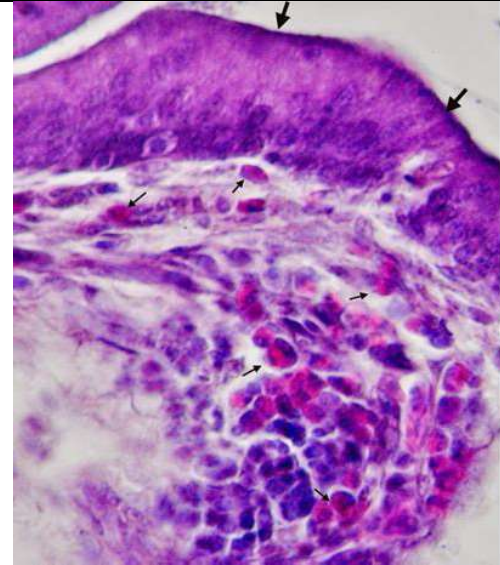


الشكل رقم (7): تشير رؤوس الأسهم الكبيرة إلى الخلايا شبه العضلية المتضخمة. وتشير الأسهم الصغيرة إلى خلايا لمفاوية نخرة. بينما يشير السهم الكبير إلى خلية بلعمية  $H&E \times 100$ .

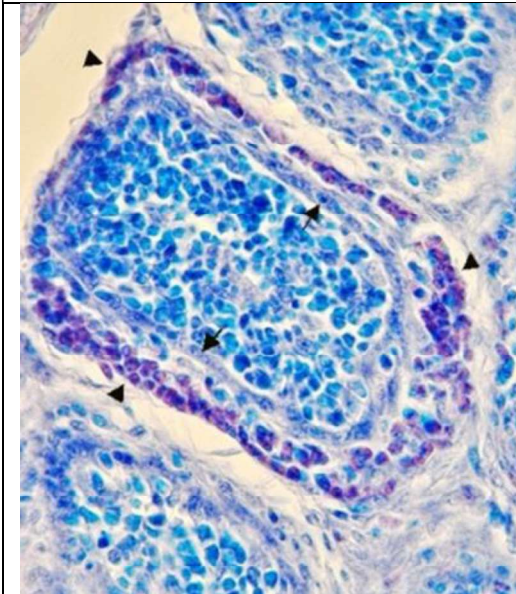




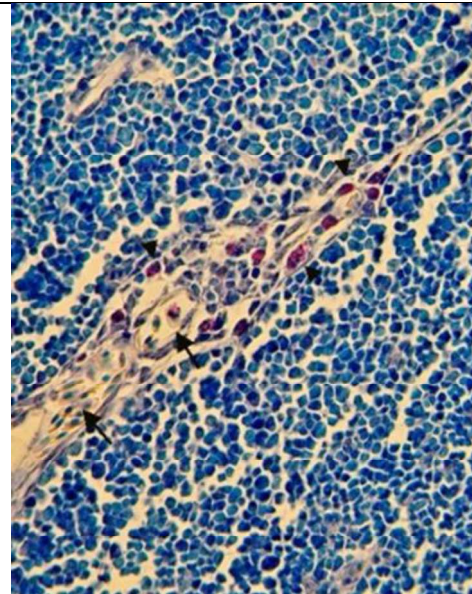
الشكل رقم (10): ارتشاح المستغيرات بشكل محيطي لبعض الجريبات اللمفاوية في جراب فابريشيوس. H&E×40



الشكل رقم (9) : تشير الأسهم الكبيرة إلى الظهارة العمودية المطبقة الكاذبة. بينما تشير الأسهم الصغيرة إلى المستغيرات المرتشحة بكثافة تحت الظهارية وحول الجريبات H&E×100.



الشكل رقم (12): تشير رؤس الأسهم إلى الخلايا البدينة المرتشحة حول بعض الجريبات اللمفاوية لجراب فابريشيوس. أزرق الميتلين ×40



الشكل رقم (11): تشير الأسهم إلى الخلايا البدينة بلون أحمر بين فصيصات التوتة وحول الأوعية الدموية. أزرق الميتلين ×40

## 5- المناقشة:

لم تلاحظ أعراض مرضية واضحة على الطيور المحصنة قبل الذبح خلال مدة التجربة، وهذا يعتبر مؤشراً إيجابياً لسلامة استخدام هذا النمط من اللقاحات رغم قصر مدة التجربة، وعموماً تتفق هذه المشاهدات مع (Darrell et al. 2013) فقد أكدوا أن العترات ضعيفة الضراوة لفيروس مرض نيوكاسل لم تسبب أعراضاً مرضية ظاهرة رغم امكانية حدوث الأمراض، كما اتفقت هذه الدراسة مع ما وجدته (Igwe et al., 2020) بعد التحصين بلقاح لاسوتا ضد فيروس مرض نيوكاسل. أظهرت الدراسة التشريحية المرضية وجود تغيرات مرضية عيانية هامة في التوتة على شكل احتقان ونزف في معظم الطيور المحصنة وبشكل مبكر جداً بعد ساعتين من التحصين، بينما لم تلاحظ هذه التغيرات في جراب فابريشيوس؛ ومن المحتمل أن ذلك عائد لتركز الفيروس في نسيج التوتة بشكل أكبر مما هو في جراب فابريشيوس.

ترافقت التغيرات السابقة العيانية مع التغيرات المجهرية في التوتة، لكن لوحظ زيادة في أعداد المستغيرات بعد 24 ساعة من التحصين سواء في التوتة أو في جراب فابريشيوس ولوحظت هذه الزيادة حتى 96 ساعة بعد التحصين و بقيت هذه الزيادة محدودة دلالة على التخرب النسيجي المحدود في النسيج اللغاوي للتوتة وجراب فابريشيوس رغم وجود بعض البؤر التي كانت فيها أعداد كبيرة من المستغيرات خاصة حول الجريات اللغاوية في جراب فابريشيوس والتي توضع بشكل لاقت حولها وبشكل حلقي مميز وبشكل أعلى مما هو في التوتة؛ وقد يكون السبب في ذلك بعض النشاط الجرثومي المحدود؛ ويبقى سبب هذا التوضع الحلقي غير واضح تماماً. كان من الواضح بعد 96 ساعة من التحصين زيادة أعداد الخلايا اللغاوية في مرحلة النخر من خلال تفكك الأنوية أو اختفائها أو تمزق الخلايا إلى عدة أجزاء، وبالمقابل لوحظ تضخم في الخلايا العضلية شبه الظهارية في التوتة وبدت ذات استطالات هيولية وربما يكون ذلك دلالة على دور نشاط بلعيمي للحطام الخلوي؛ رغم أن الدور المناعي لهذه الخلايا غير واضح حتى الآن ولم يذكر في الأدب العلمي.

وظهرت صباغ الهيموسدرين في بعض العينات بعد 96 من التحصين والذي يعتبر دليلاً على النزف الحادث في الأيام السابقة.

يمكن القول في هذه الدراسة أن التغيرات المرضية العيانية والمجهرية كانت أشد في التوتة منها في جراب فابريشيوس ويبدو أن السبب في ذلك هو طبيعة تكوين التوتة وجراب فابريشيوس المختلفة كلياً وهذا الاختلاف ليس مقتصرًا فقط على نمط الخلايا اللغاوية التائية الموجودة في التوتة والخلايا اللغاوية البائية الموجودة في جراب فابريشيوس حيث يلاحظ وجود جسيمات هاسل Hassall's corpuscle و الخلايا شبه العضلية Myoid cell في التوتة وهما تركيبين غير موجودين في جراب فابريشيوس (Bacha and Bacha, 2012, Fath El-Bab, 2004). وكما هو معروف تكون اللغاويات التائية مسؤولة عن المناعة الخلوية بينما تكون اللغاويات البائية مسؤولة عن المناعة الخلطية (Ackermann, 2017) وهي تلعب الدور الأكبر في الحماية من فيروس مرض نيوكاسل سواء عن طريق الأضداد الأمية أو الأضداد النوعية المتكونة خاصة بعد التعرض الثاني للمستضد (ويعتبر اللقاح التعرض الأول للمستضد).

رغم التغيرات المرضية الملاحظة في هذه الدراسة إلا أنها تغيرات محدودة بالمقارنة مع التغيرات المرضية التي تحدثها العترات الضارية لفيروس نيوكاسل في الأعضاء اللغاوية (Ezema et al. 2009, Nakamura et al. 2013, Susta et al. 2015, Kabiraj et al. 2020).

لم تلاحظ في هذه الدراسة زيادة واضحة في الخلايا المصورية والتي سجلها (Bili et al., 2013) في دراسته بعد 26 يوماً من التحصين بلقاح لاسوتا، وكذلك لم نسجل فرط التنسج في النسيج اللغاوي الذي وجدته (Igwe et al., 2020) وقد استخدموا لقاح لاسوتا أيضاً؛ و يبدو أن السبب في ذلك قصر مدة هذه التجربة التي بلغت ستة أيام والتي قد تكون غير كافية لتحول اللغاويات البائية إلى خلايا مصورية بعد التحريض المستضدي.

ومع ظهور النزف الدموي والاحتقان يبدو ظهور الخلايا البدينة منطقياً في التوتة بعد التحصين على اعتبار أنّ دور الخلايا البدينة معروف بتأثيره على نفوذية الأوعية الدموية من خلال افراز الهيستامين ودور هذه الخلايا في العملية الالتهابية كما بينت العديد من الدراسات (Ashley et al. 2013, Bacha & Bacha, 2012) ؛ إلا أنّ زيادتها في جراب فابريشيوس غير مفسرة تماماً في ظل غياب التغيرات الوعائية الدموية وقد تعزى هذه الزيادة بطريقة مشابهة لزيادة المستعيرات. ورغم أنّ العديد من الباحثين وجدوا زيادة في الخلايا البدينة بشكل واضح خلال الخمج التجريبي لفيروس نيوكاسل الضاري في المعدة الغدية والعفج والصائم واللوزات الأوروية (Quan et al. 2009) لم نجد من تحدث سابقاً عن تغيرات الخلايا البدينة في التوتة وجراب فابريشيوس سواء في حالة الخمج الضاري لفيروس مرض نيوكاسل أو في حالة استخدام اللقاحات المختلفة.

## References:

- 1- Ackermann, M.R., (2017). Inflammation and Healing. In: Pathologic Basis Of Veterinary Disease. edited by Zachary, J. F., editor. 6th edition. Elsevier, Printed in China, P: 73–131
- 2- Al-Garib, J.A., Gielkens, .L.J., Gruys, E. And Och,V., (2003). Review of Newcastle disease virus with particular references to immunity and Vaccination. World's Poultry Science Association, 59 June: 185–200
- 3- Ashley, L., John S. t., and Soman N. A.,(2013). Innate Immunity and Its Regulation by Mast Cells . The Journal of Immunology, 190: 4458–4463.
- 4- Bacha,W. J., and Bacha, L.M., (2012). Color atlas of veterinary histology, 3rd ed. P :358
- 5- Bello, M.B., Mahamud , A., Yuso K., Ideris A., Hair-Bejo M., Ben P.H., Peeters, and Omar, A.R., (2020). Development of an E\_ective and Stable Genotype–Matched Live Attenuated Newcastle Disease Virus Vaccine Based on a Novel Naturally Recombinant Malaysian Isolate Using Reverse Genetics. Vaccines, (8): 270
- 6- Bibi, T., Asla A., Rehmani, S. F., Shaheen A. Y., Mukhtar, N., Wajid A., Jabeen S., Afridi S. Q., Shahid H. A., (2013). Segregation of plasma cells in lymphoid organs by various routes of vaccination against Newcastle disease in broiler chickens Research · July Journal of Infection and Molecular Biology. 1 (3): 41 – 45
- 7- Darrell, R., Kapczynski, C.L., Patti, A., and Miller, J., (2013). Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. Developmental & Comparative Immunology, 41(3): 447–453.
- 8- Ezema W. S., Okoye J. O. A., & Nwanta J. A., (2009). LaSota vaccination may not protect against the lesions of velogenic newcastle disease in chickens. Tropical Animal Health and Production. April 2009 DOI: 10.1007/s11250-008-9210-x · Source: PubMed

- 9- Fath El-Bab, M. R., (2004). Histology Of Poultry An Introductory Text For Veterinary Students. Second Edition Assiut University Assiut – Egypt P:138
- 10- Graham, A. C., Rachel, M. T., and Obar, J. J., (2015). Mast cells and influenza A virus. association with allergic responses and beyond. *Frontiers in Immunology*, Volume 6 Article 238
- 11- Harrison L., C. Brown\*, C. Afonso†, J. Zhang\* and L. Susta., (2011). Early Occurrence of Apoptosis in Lymphoid Tissues from Chickens Infected with Strains of Newcastle Disease Virus of Varying Virulence. *J. Comp. Path.* Vol. 145, 327–335
- 12- Hipra, (2019) the poultry site. Cloned vaccines against Newcastle disease virus, heterologous protection against genotypes VII a XII. by 5m Editor 8 January
- 13- Igwe, A.O., Sanda, M.E., Nnsewo, U.E., Okonkwo, C.J., Onyebgula, O.E, (2020). The Pathology of Vaccination of Chickens with Varying Doses of Lentogenic LaSota Strain of Newcastle Disease Virus. *Nigerian Veterinary Journal* 41 (1)
- 14- Kabiraj, C.K., Mumu, T.T., howdhury, E.H., Islam, M.R., and Nooruzzaman, M., (2020). Sequential Pathology of a Genotype XIII Newcastle Disease Virus from Bangladesh in Chickens on Experimental Infection. *Pathogens*, 9(7): 539
- 15- Meulemans, G., Rauw, F., & van den Berg, T., (2015). Newcastle Disease & Other Avian Paramyxoviruses. In: *Manual of poultry diseases*, P: 145–155.
- 16- Miller, P.J., and Koch G., (2013). Newcastle Disease. In: *Diseases of Poultry*, edited by David E. Swayne, P: 89–138.
- 17- Nakamura, K., Ito, M., Nakamura, T., Yamamoto, Y., Yamada, M., Mase M., and IMA, K.,(2014). Pathogenesis of Newcastle Disease in Vaccinated Chickens: Pathogenicity of Isolated Virus and Vaccine Effect on Challenge of Its Virus. *J. Vet. Med. Sci*, 76(1): 31–36
- 18- Quan, S., Decheng, W., Ruiping, S., and li, W., (2009). Increased mast cell density during the infection with velogenic Newcastle disease virus in chickens. *Avian Pathology*, 37(6):579–85
- 19- Rehman Z.U., Meng, C., Umar, S., and Mahrose, K.M., (2017). Mast Cells And Innate Immunity: Master Troupes Of The Avian Immune System. *World's Poultry Science Association*, 73(3) : 621–632

- 20- Studdert, V.P., Gay, C.C., and Blood, D.C., (2012). Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary, 4TH EDITION. Elsevier Printed and bound in United States of America. P: 1340
- 21- Susta L., M. E. B. Jones, G. Cattoli, S. Cardenas–Garcia,P. J. Miller, C. C. Brown, and Afonso C. L., (2015). Pathologic Characterization of Genotypes XIV and XVII Newcastle Disease Viruses and Efficacy of Classical Vaccination on Specific Pathogen–Free Birds. Veterinary Pathology, Vol. 52(1) 120–131